# Beiträge

zur

# forensischen Chemie und Wertbestimmung scharfwirkender Drogen.

I. Quantitativer und qualitativer Nachweis des Santonins in den Blütenköpfchen von Artemisia maritima.

II. Ueber die Glukoside der Wurzel von Helleborus niger: Helleborein und Helleborin.

**Inaugural-Dissertation**

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

**hohen philosophischen Fakultät**

der

**k. b. Ludwig-Maximilians-Universität zu München**

am 25. März 1897 vorgelegt von

**Karl Thaeter**

aus Lindau i. B.

BERLIN C.

Druck von Denter & Nicolas.

ACAD.
LUGD.BAT.
BIBL.

Seinen lieben Eltern

in Dankbarkeit

gewidmet

vom Verfasser.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Hofrat Professor Dr. Hilger, auf dessen Anregung die vorliegende Arbeit entstanden ist, für die Unterstützung und das rege Interesse, welches er meinen Studien entgegenbrachte, aufrichtigen Dank auszusprechen.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553807_0092

# I. Quantitativer und qualitativer Nachweis des Santonins in den Blütenköpfchen von *Artemisia maritima*.

Die fabrikmässige Darstellung des Santonins aus den Blüten von *Artemisia maritima* gründet sich im wesentlichen auf folgendes Verfahren:

Das Santonin wird durch Kochen der Blüten mit verdünnter Kalkmilch als in Wasser und Weingeist leicht lösliches Kalksalz in Lösung gebracht und dieses letztere dann wieder durch Salzsäure in freies Santonin und Calciumchlorid zersetzt. Durch Entfärbung dieser Lösung mittelst Tierkohle und wiederholtes Umkrytallisieren wird das Santonin gereinigt. Dieser scheinbar einfache Prozess wird jedoch durch sehr lästig wirkende Harze und Farbstoffe dermafsen erschwert, dass es nach den bisher aufgestellten Methoden nicht gelingt, ohne Verlust farbloses Santonin zu erhalten.

Flückiger und Ehlinger[1]) hatten eine Methode ausgearbeitet, welche quantitativ vollkommen reines Santonin liefern soll und sich im allgemeinen auf die fabrikmässige Darstellung stützt.

Nach derselben werden die zerstossenen Blüten mit frisch gelöschtem Kalke, Wasser und Weingeist ausgekocht, die Flüssigkeit abgepresst und das Auskochen, ohne erneuten Zusatz von Kalk, noch zweimal wiederholt. Hierauf wird der Alkohol von den vereinigten Extraktionsflüssigkeiten abdestilliert, in die auf ein Drittel des Volumens eingeengte Flüssigkeit ein Strom von Kohlensäure eingeleitet, dann filtriert und das erhaltene Filtrat mit Tierkohle zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird mit 50% Alkohol ausgekocht und aus dem Filtrat das Santonin durch Krystallisation gewonnen. Diese

[1]) Archiv d. Pharmazie 1886, Band 24, Heft 1.

Methode besitzt immerhin noch grosse Nachteile und darf auf Grund verschiedener Versuche nicht als „vollkommen quantitativ“ bezeichnet werden.

Ganz abgesehen von der ziemlich umständlichen, dreimaligen Auskochung der Blüten, wodurch eine vollkommene Erschöpfung derselben doch nicht erzielt wird — denn P. Schmidt[1]) giebt an, dass durch fünfmalige Wiederholung dieser Prozedur ein noch höherer Prozentgehalt an Santonin erreicht werden kann — so entstehen bei dieser Methode noch weitere Verluste von Santonin. — Nach der Vorschrift soll die Extraktionsflüssigkeit durch Abdestillieren des Alkohols von diesem ziemlich befreit werden; es bleibt also fast nur eine wässrige Lösung von Calciumsantonat und der Harzseifen zurück, in welche dann Kohlensäure eingeleitet werden soll. Dadurch wird das Calciumsantonat zersetzt in unlösliches Calciumkarbonat und freies Santonin, welch letzteres in Lösung bleiben soll. Wie nun durch Versuch festgestellt worden ist, so bleiben in kaltem 25 % Alkohol nur 0,075 % Santonin gelöst, während in kaltem Wasser, wie bekannt, Santonin etwa 1 : 5000 löslich ist. Hier in diesem Falle ist es nach den feststehenden Thatsachen doch sehr wahrscheinlich, dass Santonin bei seiner leichten Krystallisationsfähigkeit mit ausgeschieden wird und dann auf dem Filter zurückbleibt, wodurch also ein Verlust an Santonin eintreten muss.

Ausserdem hat man gar keine Kontrolle erstens, ob die Kohlensäure wirklich ausreichend ist zur vollkommenen Zersetzung des Calciumsantonats und zweitens, wann die Zersetzung vollendet ist; denn der grösste Teil des ausgeschiedenen Calciumkarbonates geht als Bicarbonat wieder in Lösung, wodurch jedoch eine Rückbildung von Calciumsantonat nicht ausgeschlossen ist.

Ein weiterer Verlust an Santonin entsteht hauptsächlich beim Eindampfen der Santoninlösung mit Tierkohle. Es werden dadurch allerdings viele der Farbstoffe aufgenommen, doch auch Santonin wird in ganz beträchtlichen Mengen durch Tierkohle gebunden. Verschiedene, in dieser Richtung mit reinem Santonin angestellte Versuche ergaben einen Verlust von 20—30 % Santonin. Die Anwendung von Tierkohle muss daher zur Entfärbung der Flüssigkeit ganz entschieden verworfen werden, weil dadurch viel zu hohe Verluste entstehen.

Wird die Methode genau nach Vorschrift ausgeführt, so ist die zuletzt erhaltene Flüssigkeit, also selbst bei Anwendung von Tierkohle, noch tiefdunkelbraun gefärbt. Aus dieser durch Auskrystallisieren reines, farbloses Santonin zu erhalten, ist aber unmöglich, da dasselbe noch durch anhaftende, mit ausgeschiedene Harze und Farbstoffe sehr

[1]) Ebenda.

stark gefärbt ist. Es müsste also erst durch wiederholtes Umkrystallisieren gereinigt werden, wodurch aber von neuem Verluste zu verzeichnen wären.

Der angeblich erhaltene Prozentgehalt der *Flores cinae* an Santonin ist immerhin noch ziemlich hoch; doch dürfte man eine Erklärung hierfür darin finden, dass das nach dieser Methode isolierte Santonin noch nicht vollkommen rein ist und daher das Gewicht desselben durch die anhaftenden Verunreinigungen bedeutend erhöht wird.

Es ist hiermit also bewiesen worden, dass diese Methode noch verschiedene Mängel besitzt und nicht zur vollkommen quantitativen Abscheidung von reinem Santonin aus den Blüten von *Artemisia maritima* führt.

Ausser dieser Methode von Flückiger wurde schon früher von Dragendorff[1]) eine andere in Vorschlag gebracht, bei welcher statt Kalkmilch verdünnte Natronlauge zur Auskochung der Blütenköpfchen anzuwenden wäre. — Doch ist das Natriumhydroxyd eine zu starke Basis und verseift daher viel zu viel der Harze, welche dann bei der Filtration und im weiteren Verlauf der Methode ungeheuer störend wirken. Bereits Flückiger hatte diese Methode fallen lassen. Die Hauptschwierigkeit der vollständigen Trennung des Santonins von den Harzen beruht darauf, dass immer beide Teile gleiches Verhalten zeigen, während nämlich Santonin als schwache Säure mit Basen Salze bildet, werden auch die Harzsäuren verseift; durch Säuren werden dann das Santoninsalz sowohl, als die Harzseifen wieder gleichzeitig zersetzt, so dass es bis jetzt noch nicht gelungen war, ein Mittel zu finden, welches entweder nur die Harze bindet und Santonin frei lässt, oder umgekehrt.

Um vor allem aber eine vollkommene Extraktion der *Flores cinae* zu bewirken, musste in erster Linie die umständliche Auskochung derselben mit Kalkmilch, Weingeist und Wasser fallen gelassen werden. Es wurde daher an die direkte Extraktion der Blüten mittelst eines leichten Lösungsmittels von Santonin gedacht. In Betracht kamen hier hauptsächlich Chloroform, Aether und Aceton; denn in Chloroform ist Santonin im Verhältnis 1 : 4, in Aether 1 : 70, in Aceton 1 : 10 löslich. — Alle drei Lösungsmittel eigneten sich infolge ihres niedrigen Siedepunktes ausgezeichnet zur Extraktion der Blüten im Soxhletapparat. Es wurden also je 30 g kontundierte Blüten mit Chloroform, Aether, resp. Aceton der Extraktion 18 Stunden lang unterworfen. Bereits nach 12 Stunden waren die ablaufenden Flüssigkeiten nur noch sehr schwach grün gefärbt, nach 18 Stunden jedoch vollkommen farblos, ein Zeichen also, dass die Blüten in dieser Zeit

[1]) s. Dragendorff: qualitative und quantitative Analyse von Pflanzen und Pflanzenteilen 1882, S. 148.

gänzlich erschöpft waren. Es wurden nun die erhaltenen Auszüge bez. deren Verdampfungsrückstände bezüglich ihrer Beschaffenheit und weiteren Verwendbarkeit zur Isolierung des Santonins näher untersucht.

1. Der Chloroformauszug besass zähe Konsistenz und braungrüne Farbe. Es waren nur solche Harze in Lösung gegangen, welche schwierig verseift werden konnten und in verdünntem, 50 % Alkohol schwer, zum Teil sogar unlöslich waren.
2. Aehnlich verhielt sich der Aetherauszug. Konsistenz desselben ziemlich fest, Farbe dunkelgrün. Die extrahierten Harze waren ebenfalls schwer verseifbar und grösstenteils unlöslich in 50 % Alkohol. Bei der Extraktion wurde beobachtet, dass sich sehr bald im Extraktionskolben ein Kranz schöner Santoninkrystalle absetzte, woraus ersichtlich, dass trotz der verhältnismässig schweren Löslichkeit des Santonins in Aether durch diesen eine vollständige Erschöpfung der Blüten leicht herbeigeführt werden kann.
3. Weniger günstig waren die Resultate, welche bei der Extraktion der Blüten mittelst Aceton erzielt wurden. Der Auszug war von ziemlich weicher Konsistenz, besass dunkelbraune Farbe; die Harze und Farbstoffe waren schon grösstenteils in Wasser, vollständig in 50 % Alkohol löslich; ferner war die Quantität derselben fast doppelt so gross als bei der Extraktion mit Aether oder Chloroform.

Es ergab sich also der Aether wohl als das geeignetste Extraktionsmittel. Wenn auch die Beschaffenheit des Chloroform- und Aetherauszuges ziemlich die gleiche war, so musste doch der Aether dem Chloroform vorgezogen werden, denn bei dem 18 stündigen Erwärmen dürfte eine Zersetzung des letzteren, welche eventuell störend wirken könnte, nicht ausgeschlossen sein, während bei Anwendung von Aether eine solche unmöglich wäre.

Somit wurde von nun an immer mit dem Aetherextrakt als Ausgangsmaterial operiert. — Es bestand dann noch die Aufgabe, ein Mittel zu finden, welches geeignet wäre, in diesem Gemische die Harze und Farbstoffe vom Santonin zu trennen.

Ziemlich naheliegend war, die Harze durch irgend ein Bleisalz zu fällen. Anwendung fanden sowohl neutrales und basisches Bleiacetat, als auch frisch gefälltes Bleihydroxyd, um dadurch Verseifung der Harze herbeizuführen. Allein keine der drei Behandlungsmethoden führte zur vollständigen Trennung. Zum Schlusse wirkten bei der Krystallisation des Santonins immer noch Harz- und Farbstoffabscheidungen störend, doch nicht in so hohem Grade, wie bei der Methode von Flückiger. Nebenbei musste allerdings auch Santonin

verlust bei Anwendung des Bleiverfahrens konstatiert werden, herbeigeführt durch die Bildung des sehr schwer löslichen Bleisalzes des Santonins, welches seinerseits sehr viel Lösungsmittel für sich in Anspruch nehmen würde, wodurch andererseits wieder viel mehr Farbstoffe und Harze mit in Lösung gebracht würden. Es musste also dieser Versuch fallen gelassen werden, da er an Ausbeute und Reinheit des Santonins keine besseren Resultate lieferte, als die Methode von Flückiger.

Als ein ganz ausgezeichnetes Mittel zur Bindung der Farbstoffe hatte sich frisch gefälltes Aluminiumhydroxyd bewiesen. Auf Grund dieser Eigenschaft wurde eine Methode ausgearbeitet, welche ganz vorzügliche Resultate lieferte, sowohl was Reinheit des Santonins, als auch die Ausbeute desselben anbelangt. Anwendung fand eine 33 % Aluminiumacetatlösung, wie sie als *Liquor alumini acetici* offizinell ist. Aluminiumacetat zerfällt, wie bekannt, beim Kochen seiner Lösung in Aluminiumhydroxyd und freie Essigsäure; dieses ist der wesentliche Moment, welcher bei der gleich zu beschreibenden Methode so ausgezeichnete Dienste leistete.

Das *im statu nascendi* gefällte Aluminiumhyhroxyd bindet sofort Farbstoffe, während die freie Essigsäure die Aufgabe hat, das in Lösung befindliche Calciumsantonat zu zersetzen in freies Santonin und Calciumacetat.

Der Verlauf der Methode war also folgender:

Die grob gepulverten *Flores cinae* wurden mit Aether im Soxhletschen Extraktionsapparat 12—18 Stunden ausgezogen. Der nach Verdampfung des Aethers erhaltene Rückstand wurde dann mit der entsprechenden Menge frisch bereiteter Kalkmilch etwa eine Stunde lang gekocht, wodurch einerseits das vorhandene Santonin in das bereits in Wasser lösliche Calciumsalz übergeführt, andererseits ein Teil der Harze verseift wurde, während der grösste Teil derselben ungelöst und unverseift blieb. Der Kalkbrei wurde dann zweimal mit hinreichenden Mengen Wassers ausgekocht und heiss filtriert. Das erhaltene, nur dunkelgelb gefärbte Filtrat wurde hierauf mit Aluminiumacetatlösung versetzt, einmal zum Aufkochen gebracht und dann auf dem Wasserbade stark konzentriert, wodurch also einerseits die Bindung der Harze und Farbstoffe an das frisch gefällte Aluminiumhydroxyd, und andererseits die Zersetzung des Calciumsantonats durch die freie Essigsäure in Santonin und Calciumacetat bewirkt wurde. Um nun die überschüssige Essigsäure in der schon ziemlich konzentrierten Flüssigkeit zu binden, wurde ein Ueberschuss von Magnesiumoxyd zugesetzt und zu einem gleichmässigen Brei durchgearbeitet, dieser hierauf zur Trockne eingedampft und bei 105° C. 2—3 Stunden scharf ausgetrocknet.

Durch den Zusatz von Magnesiumoxyd zu der konzentrierten Flüssigkeit war eine Salzbildung desselben mit Santonin nicht zu befürchten, da durch Versuche festgestellt worden war, dass selbst beim Kochen von Magnesiumoxyd mit Santonin in reichlichen Mengen Wasser nur äusserst schwierig eine Salzbildung zu stande kam. In diesem Falle diente der Zusatz von Magnesiumoxyd ausserdem noch dazu, die Masse etwas voluminöser zu machen.

Die gepulverte, staubtrockene Masse wurde dann im Soxhlet-Apparat mit wasser- und säurefreiem Aether der Extraktion unterworfen. Nach 4—5 Stunden war dieselbe vollendet und nach der Verdampfung des Aethers blieb nur durch geringe Spuren von Verunreinigungen gelblich gefärbtes Santonin im Kolben zurück. Bei der Lichtempfindlichkeit des Santonins war es notwendig, den Extraktionskolben durch gelbes Papier vor dem Tageslicht zu schützen.

Bei dieser Darstellungsmethode des Santonins sind besonders folgende Punkte zu berücksichtigen: Das ätherische Extrakt der Blüten muss mindestens eine Stunde lang mit verdünnter Kalkmilch im Ueberschuss gekocht werden, denn die Salzbildung des Santonins geht nur verhältnismässig schwierig vor sich.

Ferner muss die Neutralisation mit Magnesiumoxyd unbedingt vorgenommen werden, da selbst beim scharfen Trocknen der Masse Essigsäure von derselben zurückgehalten wird, die dann bei der Extraktion Farbstoffe mit sich reisst. — Auch muss besondere Aufmerksamkeit auf das Trocknen der Masse nach der Neutralisation verwendet werden; nur staubtrockenes Pulver soll zur Extraktion kommen. Spuren von Feuchtigkeit bewirken Färbung des ausgezogenen Santonins.

Die Verwendung von wasser- und säurefreien Aethers zur letzten Extraktion ist unbedingt notwendig, da durch wasser- oder säurehaltigen Aether Lösung von Farbstoffen bewirkt wird.

Wird also genau nach der oben angeführten Methode verfahren, so kann das Resultat stets ein sehr befriedigendes genannt werden. Die Methode hat ferner den Vorzug, dass sie äusserst angenehm und leicht mit den einfachsten Mitteln ohne grossen Kostenaufwand ausführbar ist und dürfte somit auch zur Verwendung bei den Arbeiten im Grossen gelangen.

Drei verschiedene Sorten der *Flores cinae* lieferten nach dieser Methode:

Sorte A. = 2,26 % Santonin
Sorte B. = 2,43 % „
Sorte C. = 2,78 % „

Erst in letzter Zeit ist von H. Thoms[1]) die Kippenberger'sche Methode[2]) zur quantitativen Bestimmung von Santonin empfohlen worden. Wenn auch dieselbe hier in diesem Falle bei der Isolierung des Santonins aus den Blüten von *Artemisia maritima* nicht in Anwendung kommen kann, so muss sie doch auf Grund dieser Mitteilung hier besprochen werden. — Hauptzweck der Methode von Kippenberger ist die Trennung der Fäulnisalkaloide von den natürlich vorkommenden Alkaloiden herbeizuführen, was durch zweitägige Digestion bei 30—40° C. der zu untersuchenden Masse mittelst reichlich tanninhaltigen Glyzerins bewirkt wird, wobei die Alkaloide in Lösung gehen, während die Fäulnisprodukte ungelöst bleiben. Dies ist der wesentliche Teil der Methode. Die folgende Ausschüttelung des die Alkaloide in Lösung haltenden Tannin-Glyzerins mit Chloroform kommt erst in zweiter Linie in Betracht und kann das Chloroform eventuell durch andere Lösungsmittel ersetzt werden. Nun ist von H. Thoms diese Methode auch auf Santonin ausgedehnt und als „sehr brauchbare Resultate liefernde" bezeichnet worden, ohne jedoch den ersten Teil der Methode näher zu berücksichtigen.

Wie bereits oben erwähnt wurde, müsste es die erste Aufgabe sein, aus irgend einem Objekte, z. B. Speiseresten, Leichenteilen etc., das Santonin durch reichlich tanninhaltiges Glyzerin in Lösung zu bringen. Bei der schweren Löslichkeit und der hohen Krystallisationsfähigkeit des Santonins ist es anzunehmen, dass dasselbe in jenen Objekten auch als krystallinisches Santonin zugegen sein muss. Dieses mit Tannin-Glyzerin in Lösung zu bringen, ist, wie durch Versuch festgestellt wurde, jedoch bei einer Temperatur von 40° C. sehr schwer. — Es wurden z. B. 0,5 g Santonin mit 80 g Glyzerin, welches 5 g Tannin gelöst enthielt, 2 Tage lang bei 40° C. digeriert. Nach Verlauf dieser Zeit und beim Einhalten der vorgeschriebenen Temperatur war jedoch nur sehr wenig Santonin in Lösung gegangen. Erst beim längeren Erhitzen auf 100° löste sich allmählich alles Santonin auf, doch beim Erkalten schied sich dasselbe grösstenteils krystallinisch wieder aus. Hieraus war zu ersehen, dass bei einer Temperatur von 40° C., — denn höhere Temperatur darf bei einer Untersuchung, wo es sich darum handelt, neben anderen Alkaloiden Santonin nachzuweisen, wegen einer eventuellen Zersetzung nicht angewendet werden — gar nicht die Rede sein kann von einer vollkommenen Löslichkeit des Santonins in tanninhaltigem Glyzerin. — Aus diesem Grunde dürfte wohl das Santonin in der Reihe der Giftstoffe, welche nach der Methode

[1]) Bericht d. Deutsch. Pharmazeut. Gesellschaft. VI. Jahrg. Heft 8.
[2]) Zeitschr. f. analyt. Chemie 34, 294—346.

von Kippenberger quantitativ isoliert werden können, keine Aufnahme finden. Hat man es allerdings mit irgend einer zu untersuchenden Flüssigkeit zu thun, in welcher sich das Santonin bereits in Lösung befindet, so fällt der erste Teil der Kippenberger'schen Methode an und für sich schon weg und es kann gleich zur Ausschüttelung der angesäuerten Flüssigkeit mit Chloroform geschritten werden. Infolge der leichten Löslichkeit des Santonins in Chloroform darf dann auf vollständige Extraktion desselben gerechnet werden. In solchen Fällen kann also die zweite Abteilung der Kippenberger'schen Methode, nämlich das Chloroformausschüttelungsverfahren, wie H. Thoms mit Recht angiebt, bei Santonin mit gutem Erfolge in Anwendung kommen.

Veranlasst durch die Arbeit von Thoms wurde das Verhalten des Santonins gegen Tannin näher untersucht. Auffälligerweise wurde Santonin durch Tannin in wässeriger Lösung gefällt.

Alkoholische Santoninlösung dagegen wurde nicht gefällt, erst bei Verdünnung derselben mit Wasser fiel ein weisser Niederschlag aus, der sich beim Erwärmen, ferner auf Zusatz von überschüssigem Tannin leicht wieder auflöste.

Auf dieses Verhalten sich stützend wurde ein Versuch gemacht das Santonin aus den Blüten zu isolieren, doch ergab er kein befriedigendes Resultat.

## Qualitativer Nachweis von Santonin.

Alle bis jetzt in Vorschlag gebrachten Santoninreaktionen haben den Nachteil, entweder nicht scharf genug oder nur unregelmässig einzutreten. In der Litteratur finden sich zahlreiche Kritiken über die aufgestellten Reaktionen, ohne jedoch viel bessere, neue Vorschläge zu bringen. Auch hier darf in Kürze an die verschiedenen, in Vorschlag gebrachten Reaktionen zur Charakterisierung des Santonins erinnert werden.

Die zweite, deutsche Pharmakopoe gab folgende Identitätsreaktion an: 5 Teile Santonin mit 4 Teilen Natriumkarbonat, 60 Teilen Weingeist und 20 Teilen Wasser gekocht, nimmt die Flüssigkeit abwechselnd eine rote und gelbe Farbe an. Diese Reaktion ist so wenig charakteristisch und vor allem nicht empfindlich genug, um sich eine dauernde Anwendung sichern zu können.

In der dritten Pharmakopoe fand die Lindo'sche Reaktion Aufnahme, wonach Santonin, in konzentrierter Schwefelsäure gelöst, auf Zusatz von einem Tropfen Eisenchloridlösung eine violette Färbung giebt. — Auch hier macht sich der Nachteil fühlbar, dass die Violettfärbung nicht regelmässig auftritt; auch sind bereits von verschiedenen

Seiten Vorschläge zur Verbesserung dieser immerhin ganz brauchbaren Reaktion gemacht worden.

Nach genauen Untersuchungen wurde gefunden, dass die Violettfärbung meist nur dann auftritt, wenn der Eisenchloridzusatz nur sehr gering ist und vorsichtig auf dem Wasserbade erwärmt wird. Ausserdem dürfte zur Beobachtung der Farbenerscheinung die Reaktion zweckmässiger in einem flachen Porzellanschälchen als im Reagenzglas, wo sich der Farbenumschlag weniger scharf dem Auge kund giebt, ausgeführt werden. Trotzdem kann, selbst wenn nach dieser Vorschrift verfahren wird, die Reaktion nicht als sehr empfindlich bezeichnet werden.

Die Identitätsreaktion der zweiten Pharmakopoe hat bereits längst eine bessere Modifikation erhalten, indem statt Natriumkarbonatlösung alkolische Kalilauge verwendet wird. Hier tritt beim Erwärmen schön rote Färbung auf, die aber bald in Gelb übergeht und dann erblasst. Diese Färbung und auch die Zeitdauer derselben kann bedeutend erhöht werden, wenn man folgendermafsen vorgeht:

Santonin wird in einem trockenen Reagenzglase vorsichtig zum Schmelzen erhitzt, so dass gerade nur Sublimation ohne Zersetzung desselben eingetreten ist, und hierauf sofort nach der nötigen Abkühlung alkoholische Kalilauge 1 : 10 zugesetzt. Es löst sich das Sublimationsprodukt sogleich mit intensiv roter Farbe und bleibt die auftretende Färbung über eine Stunde unverändert bestehen, ehe sie verblasst. Auf diese Weise kann eine deutliche Erkennung von Santonin erzielt werden, da diese Farbenerscheinung mit 1—2 Kryställchen Santonin noch scharf hervortritt; auch trifft diese Reaktion stets ein, weshalb sie der Identitätsreaktion der dritten Pharmakopoe vorgezogen werden dürfte.

Von Neumann[1]) wurde der Vorschlag gemacht, Santonin 1 bis 2 Tage dem Sonnenlicht auszusetzen und dann alkoholische Kalilauge zuzufügen; doch kommt man mit obiger Modifikation schneller zum Ziele.

Eine weitere Santoninreaktion ist aufgestellt worden von Czumpelitz[2]), welcher Santoninlösung mit Chlorzinklösung auf dem Wasserbade zur Trockene eindampfen lässt; doch ist die hierbei auftretende blauviolette Färbung ziemlich undeutlich und kann daher diese Reaktion zum exakten Nachweis von Santonin wenig empfohlen werden.

Eine neue Santoninreaktion wurde gefunden, welche auf sehr empfindlichen und charakteristischen Farbenerscheinungen beruht und ein sehr brauchbares Resultat zum Nachweis liefern kann. Es ist dies

[1]) Jahresbericht d. Pharmazie 1884, S. 1165.

[2]) Chemisch. Zentralblatt, Jahrg. 1881, S. 710.

eine Reaktion des Santonins mit Furfurol und konzentrierter Schwefelsäure. Anwendung findet alkoholische Santonin- und 2% alkoholische Furfurollösung, wozu käufliches Furfurol, welches durch Oxydation meist braungefärbt ist, durch fraktionierte Destillation zuerst gereinigt wurde, so dass also nur farbloses Furfurol zur Anwendung kam.

Die Reaktion wird auf folgende Weise ausgeführt: 2—3 Tropfen der alkoholischen Santoninlösung werden am besten im flachen Porzellanschälchen mit 1—2 Tropfen der Furfurollösung gemischt und dann etwa 2 ccm konzentrierte Schwefelsäure zugesetzt. Beim Erwärmen der Mischung auf dem Wasserbade tritt nach dem Verdunsten des Alkohols eine prachtvoll purpurrote Färbung auf, welche alsbald folgenden Farbenumschlag erfährt. Zuerst geht die purpurrote Farbe über in karmoisinrot, dann folgt blauviolett und tiefdunkelblau, bis zuletzt schwarze Fällung entsteht. Alle Farbennüancen sind hellleuchtend und selbst bei zweistündigem, fortgesetztem Erwärmen auf dem Wasserbade anhaltend, ohne an Kraft zu verlieren und ehe die schwarze Fällung eintritt. Erwärmt man dagegen die Mischung auf dem Wasserbade nur bis zur auftretenden Purpurrotfärbung und lässt dann abkühlen, so geht der oben angegebene Farbenumschlag nur äussert langsam vor sich; sogar nach Verlauf eines Tages ist noch deutliche Blaufärbung zu beobachten. Hier muss bemerkt werden, dass Furfurollösung, allein mit konzentrierter Schwefelsäure erwärmt, zuerst eine blassrosa Färbung hervorbringt, die aber bald in ein missfarbiges Braun umschlägt. Diese Missfärbung wird aber durch die leuchtenden Farben, welche Santonin mit Furfurol erzeugt, vollkommen verdeckt. Man darf sich also durch eine derartige, undeutliche Färbung nicht irreführen lassen und daraufhin auf die Gegenwart von Santonin schliessen. Ist letzteres wirklich vorhanden, so tritt selbst bei Spuren deutliche und leuchtende Farbenerscheinung auf, denn die Empfindlichkeit ist ungemein gross, so dass noch 0,0001 g Santonin deutlich diese Färbung giebt. Weiter sollte jedoch die Reaktion nicht ausgedehnt werden, da bei Anwendung geringerer Mengen die leuchtende Farbe nicht mehr intensiv genug auftritt, um die Missfärbung zu übertreffen.

Hält man die oben angegebene Reihenfolge bei der Mischung der Agentien nicht ein, sondern fügt zuerst konzentrierte Schwefelsäure zur Santoninlösung und dann zuletzt die Furfurollösung, so muss, um das Auftreten der Färbung zu erhalten, etwas mehr der letzteren, ungefähr 6 Tropfen, angewendet werden, jedenfalls weil sich bei der durch das Mischen der spirituösen Lösung mit konzentrierter Schwefelsäure erzeugten Wärme die geringe Menge Furfurol verflüchtigt, ehe eine Verbindung mit dem Santonin stattfinden kann. Doch hat die zuletzt angeführte Reihenfolge den Vorzug, dass durch die konzentrierte

Schwefelsäure eventuell die Beimischung eines fremden Körpers durch das Auftreten einer Färbung, Bräunung oder Verkohlung kund gegeben würde, während Sontonin mit Schwefelsäure farblos bleiben muss, durch welche Eigenschaft es sich von sehr vielen Körpern unterscheidet.

Auch muss hier, wie schon oben erwähnt wurde, wiederholt darauf aufmerksam gemacht werden, dass die Reaktion nur im flachen Porzellanschälchen ausgeführt werden soll; denn nur dann ist das Auftreten und der Uebergang der Färbungen deutlich wahrnehmbar, während sich diese im Reagenzglase sehr der Beobachtung entziehen. —

Im Anschluss an diese Reaktion muss die Furfurolreaktion im allgemeinen etwas ausführlicher besprochen werden, um derselben in diesem Falle den thatsächlichen Wert zu sichern, da bekanntlich Furfurolfärbungen bei Gegenwart von Säure vielfach schon erwähnt worden sind. —

Zuerst hat v. Udranszky[1]) zahlreiche Substanzen untersucht, welche mit Furfurol bei Gegenwart von Säuren Farbstoffe bilden. Nach ihm hat sich die Furfurolreaktion immer mehr eingebürgert und wurde dieselbe noch auf viele, von diesem nicht untersuchte Körper ausgedehnt.

v. Udranszky führt seine Reaktion folgendermassen aus: Er lässt die zu untersuchende Substanz in Alkohol oder Wasser lösen resp. suspendieren, nachher einen Tropfen 0,5% Furfurolwassers zusetzen und schliesslich konzentrierte Schwefelsäure vorsichtig unter die Flüssigkeit schichten und zwar unter Kühlung, so dass wenigsten die Temperatur 50° C. nicht übersteigt. An der Berührungsfläche der beiden Flüssigkeitsschichten treten dann mehr oder weniger deutliche Farbenerscheinungen auf. Eine grosse Zahl von Körpern, sowohl der Fett- wie Benzolreihe angehörend, zeigen bei der angegebenen Behandlungsweise in der Kälte Farbenerscheinungen, die vom lichten Rosa bis dunkel Blauviolett spielen. Doch bei nur geringer Erwärmung werden dieselben fast ausnahmslos nussfarben und allmählich durch stärkere Einwirkung der Schwefelsäure schmutzigbraun.

Beim näheren Studium der in genannter Arbeit aufgestellten Tabelle derjenigen Körper, welche die Furfurolreaktion zeigen, gewinnt man sofort den Eindruck, dass durch diese Reaktion keine genaue Unterscheidung der einzelnen Stoffe ermöglicht wird, da die meisten derselben nur zu wenig Unterschied der Farbennüancen zeigen. Ferner bemerkt Verfasser selbst, dass bei der vorsichtigsten und stets gleichen Ausführung der Reaktion bei ein und demselben Körper oft verschiedene Färbungen auftreten, wodurch also der Nachweis eines speziellen Körpers noch bedeutend erhöht wird.

---

[1]) Zeitschrift f. physiolog. Chemie XII. p. 4 und 5.

Nur ganz wenige der dort angeführten Verbindungen zeichnen sich durch besonders hervorragende Färbungen aus und ertragen die sogenannte Feuerprobe, indem sie auch beim Erwärmen die leuchtende Kraft der Farben beibehalten, während die übrigen dieselbe einbüssen und der Missfärbung die Oberhand lassen. Es wurden daher nun alle diejenigen in der Tabelle aufgeführten Körper der Kontrolle unterworfen, betreffs ihres Verhaltens gegen Furfurol und konzentrierte Schwefelsäure in der Wärme, welche bereits in der Kälte Färbungen hervorbringen, die v. Udranszky mit den Prädikaten „lebhaft, prachtvoll etc." bezeichnet hat. Von all diesen bewährten sich nur α- und β-Naphtol, Veratrin; während auffälligerweise selbst Phenol, Anilin etc., das in der Kälte ziemlich grosse Färbungsvermögen bei Anwendung von Wärme vollständig verloren, indem auch bei diesen die Missfärbung auftrat.

Es wurden nun weitere Versuche angestellt mit einer Reihe von Körpern, die den Klassen der Alkaloide, Glykoside, sog. Bitterstoffe etc. angehören und deren Verhalten gegen Furfurol und konzentrierte Schwefelsäure in der Wärme näher studiert. — Das Verfahren war genau dasselbe, wie hier oben bei Santonin angegeben wurde. — Zur Untersuchung gelangten: Agaricin, Aconitin, Apomorphin, Alantoin. Atropin, Asparagin, Amygdalin, Berberin, Betain, Bryodin, Brucin, Cantharidin, Cetrarin, Chinin, Cinchonin, Cinchonidin, Colchicin, Conchinin, Codein, Cocain, Digitalin, Digitalein, Digitoxin, Ecgonin, Frangulin, Koussin, Kairin, Meconin, Morphin, Meconsäure, Narcein, Papaverin, Phlorrhicin, Physostigmin, Pilocarpin, Picrotoxin, Piperin, Salicin, Saligenin, Saponin, Solanin, Strychnin, Thebain, Umbelliferon, Veratrin. —

Fast ausnahmslos zeigten diese Substanzen undeutliche Farbenerscheinungen, welche sehr bald verschwanden. Durch charakteristisches Verhalten zeichneten sich nur aus: Picrotoxin, Piperin und Veratrin.

In Wegfall kommen natürlich auch diese Körper, welche bereits durch Schwefelsäure allein charakteristische Färbungen zeigen, welche durch die Gegenwart von Furfurol nicht verändert werden, wo also der die Farbe erzeugende Teil die Schwefelsäure und nicht das Furfurol ist. Es ist daher sehr notwendig, dass stets vor der Ausführung der Furfurolreaktion das Verhalten gegen konzentrierte Schwefelsäure geprüft werden muss. — Ferner muss hier bemerkt werden, dass alle diejenigen Farbenerscheinungen, welche nicht vollkommen deutlich, klar und längere Zeit anhaltend auftraten, hier keine Berücksichtigung fanden. — Wenn auch z. B. Digitalin und Digitalein vorübergehend grüne Färbungen zeigten, andere dagegen verschiedene Nüancen von Violett, so sind diese Erscheinungen doch nicht eigenartig und charak-

teristisch genug, um auf Grund dieser die Anwesenheit der betreffenden Körper konstatieren zu können.

Es kommen hier also nur in Betracht:

α-Naphtol, β-Naphtol, Veratrin, Picrotoxin, Piperin und Santonin. Werden diese nach der hier gegebenen Vorschrift behandelt, zeigen sie folgendes Verhalten:

α-Naphtol: zuerst carmoisinrot, dann violett. Letztere Färbung ist anhaltend selbst beim 1stündigen Erwärmen auf dem Wasserbade.

β-Naphtol: zuerst orange und dann kirschrot.

Veratrin: anfangs verschiedene Färbungen, wie grün, rot, blau, dann in violett übergehend; bei fortgesetztem Erwärmen etwa nach $^1/_2$ Stunde braunwerdend. — Mit Schwefelsäure allein zuerst gelb, dann rasch in carmoisinrote Färbung übergehend, beim Erwärmen bald braunwerdend. —

Picrotoxin: schön violette Färbung, lange andauernd.

Piperin: sofort schön hellgrün, dann allmählich übergehend in meergrün, blaugrün und zuletzt indigoblau. Die prachtvoll leuchtenden Farben sind lange beständig und äusserst charakteristisch. Schwefelsäure allein erzeugt schön rotgelbe Färbung, die beim Erwärmen bald braun wird.

Santonin: zuerst purpurrot, carmoisinrot, blauviolett und allmählich tief dunkelblau, zuletzt schwarze Fällung. Schwefelsäure allein keine Färbung.

Man sieht also aus dieser Tabelle, dass die Farbenfolge bei den einzelnen Körpern eine sehr verschiedene ist, so dass zu einer Verwechslung dieser, unter sich, absolut keine Veranlassung gegeben ist. Sollte die Entscheidung dennoch zweifelhaft werden, so geben das Verhalten gegen konzentrierte Schwefelsäure, ferner die physikalischen Eigenschaften den ausschlagenden Entscheid.

Eine Aenderung der Farbenerscheinungen, wie sie v. Udranszky bei der Ausführung seiner Reaktion oft bei ein und demselben Körper beobachtete, konnte bei dieser Reaktion niemals wahrgenommen werden; stets trat die nämliche charakteristische Farbenfolge mit der gleichen Intensität auf.

Bisher war die Furfurolreaktion bekannt von α- und β-Naphtol, denn von Neumann und Wender[1]) wurde sie auf Veratrin angewendet. Neu sind jedoch die Erscheinungen, welche Picrotoxin, Santonin und

[1]) Pharm. Zentralh. 1893, S. 601.

Piperin zeigen. Letzteres nimmt hier eine ganz besondere Stellung ein, da wohl keiner der untersuchten Körper auch nur im Entferntesten eine derartige, prachtvoll leuchtende grüne bis blaue Färbung aufweist. Es wird also die Furfurolreaktion als äusserst charakteristisch zum Nachweis von Piperin empfohlen. Für Santonin ist durch die hier ausführlich besprochenen Erörterungen ebenfalls die Furfurolreaktion als charakteristisch erwiesen worden und kann sie vollkommen zur Identifizierung derselben genügen.

Auf Grund all dieser Versuche kann daher die Furfurolreaktion nach der Modifikation von v. Udranszky als Identitätsreaktion einzelner Körper keine Anwendung finden, während sie in der hier aufgestellten Form zuverlässige Resultate liefern kann. Damit soll jedoch noch nicht behauptet werden, dass die Reihe der mit Furfurol Farbstoff liefernden Körper mit den wenigen hier angeführten abgeschlossen sei. Im Gegenteil könnte vielleicht in manchen Fällen diese Reaktion zur Identifizierung noch gute Dienste leisten. —

---

## II. Ueber die Glukoside der Wurzel von Helleborus niger: Helleborein und Helleborin.

Von Husemann und Marmé[1]) wurde der chemische Charakter der physiologisch-wirksamen Bestandteile der Wurzeln von *Helleborus niger* und *Helleborus viridis* näher untersucht und aus den Wurzeln beider Helleborusarten je zwei Glukoside, bezeichnet mit den Namen Helleborein und Helleborin, isoliert.

Festgestellt wurde ferner, dass der Gehalt an Helleborein in der schwarzen Niesswurzel ein viel grösserer ist, als in der grünen, während im Gegenteil das Helleborin in letzterer zwar immerhin sparsam, doch reichlicher auftritt als in der schwarzen Niesswurzel, wo sich nur Spuren desselben vorfinden.

Was nun die Isolierung der beiden Glukoside betrifft, so benutzten sie als Ausgangsmaterial einesteils die wässerige Auskochung der Wurzel zur Darstellung von Helleborein und andererseits den weingeistigen Auszug, um das Helleborin zu gewinnen. Helleborein löst sich nämlich, wie festgestellt wurde, leicht in Wasser und Weigeist, jedoch ist es vollkommen unlöslich in Aether, während das Helleborin

[1]) Annalen d. Chemie u. Pharmazie 135, S. 55–65.

unlöslich ist in Wasser, löslich dagegen in Weingeist und Aether. In Wasser soll letzteres auch löslich sein bei Gegenwart von Helleborein, worauf Husemann und Marmé ihr Darstellungsverfahren begründen. Darnach soll der weingeistige Auszug der Wurzel durch Destillation vom Weingeist befreit, dann der bleibende Rückstand, der die beiden Glukoside enthält, wiederholt mit beträchtlichen Mengen kochenden Wassers ausgeschüttelt und die wässerigen Flüssigkeiten nach Entfernung des aufschwimmenden fetten Oeles eingedampft werden. — Bei starker Konzentration und beim Erkalten soll sich dann das Helleborin in kleinen Krystalldrusen abscheiden, welche gesammelt und durch öfteres Umkrystallisieren aus kochendem Weingeist gereinigt werden, bis blendend weisses Helleborin resultiert. —

Die Darstellung von Helleborein beruht nach ihnen in Kurzem auf folgendem Verfahren:

Der wässerige Auszug der Wurzel wird mit basischem Bleiacetat gefällt, das überschüssige Bleiacetat mit schwefelsaurem Natrium entfernt und im konzentrierten Filtrat das Helleborein durch Gerbsäure ausgefällt. Der Niederschlag wird hierauf mit Weingeist zu einem Brei angerieben und mit geschlemmter Bleiglätte auf dem Wasserbade zur Trockne eingedampft. Die Zersetzung des gerbsauren Niederschlages mit Bleiglätte soll solange wiederholt werden, bis im Filtrat einer weingeistigen Auskochungsprobe durch Eisenchlorid keine Gerbsäure mehr nachgewiesen werden kann. Dann wird die trockene Masse mit Weingeist ausgekocht und aus der stark konzentrierten weingeistigen Lösung das Helleborein mit Aether gefällt. Durch wiederholtes Auflösen in Weingeist und Fällen durch Aether wird es gereinigt. Aus konzentrierter, weingeistiger Lösung soll es dann in durchsichtigen, erbsengrossen, aus mikroskopischen Nadeln bestehenden Warzen auskrystallisieren.

Diese beiden Darstellungsweisen von Husemann und Marmé ergaben nach verschiedenen Vorversuchen wenig erfreuliche Resultate, sowohl was Ausbeute und vor allem was die Reinheit der Körper anbelangt. Besonders die Methode zur Isolierung des Helleborins führte zu gar keinem Ziele, denn weil dieses Glukosid nur in sehr geringen Mengen vorhanden ist, so muss auch ein beträchtliches Quantum von Wurzeln in Arbeit genommen werden, welches aber beim vollständigen Auskochen und Ausschütteln dermassen mit Farbstoffen und Harzen etc. gesättigte Lösungen liefert, aus denen beim Konzentrieren eine Auskrystallisierung des Glukosides fast nicht zu erzielen sein dürfte.

Die Darstellung des Helleboreins dagegen konnte im allgemeinen nach der gegebenen Vorschrift ausgeführt werden. Ueber die einzelnen Abänderungen wird weiter unten berichtet werden. —

Um aber vor allem eine exakte Trennung der beiden in den Wurzeln vorhandenen Glukoside Helleborein und Helleborin zu bewirken, wurde das verschiedene Verhalten der beiden gegen Lösungsmittel in Anwendung gebracht. Wie bereits oben bemerkt wurde, ist Helleborein in Wasser sehr leicht, in Aether dagegen unlöslich; Helleborin verhält sich dagegen gerade umgekehrt, indem es in Aether löslich ist, in Wasser jedoch nicht. Wird daher die zerkleinerte Wurzel direkt zuerst mit Aether vollkommen extrahiert, so geht man sicher, dass im ätherischen Extrakt neben Fetten, Harzen und Farbstoffen nur das Helleborin enthalten ist, während das Helleborein aus der mit Aether extrahierten Wurzel dann durch Auskochen mit Wasser gewonnen werden kann.

Als Ausgangsmaterial zur Darstellung der beiden Glukoside wurde die Wurzel von *Helleborus niger* in Anwendung gebracht, welche in ausgezeichneter, frisch gesammelter Qualität zur Verarbeitung gelangte. Aetherischer Extrakt wurde ungefähr 5 % der angewandten Wurzel erhalten und etwa 30 % wässeriger Extrakt, welche dann ihrerseits zur Darstellung der Glukoside weiter verarbeitet wurden.

Da das Helleborein wohl das wichtigere der beiden Glukoside ist, so soll auch hier dessen Darstellung und chemisches Verhalten in erster Linie behandelt werden.

### A. Helleborein.

Das nach oben angegebener Methode erhaltene wässerige Extrakt, welches zähflüssige Konsistenz und schön rotbraune Farbe besass, wurde in der Wärme mit Weingeist behandelt. (Auf 500 g Extrakt trafen ungefähr $2^1/_2$ l Weingeist.) Nur etwa 50 % der Extraktivstoffe gingen mit dem Helleborein in Lösung, während die andere Hälfte als zähe, klebrige Masse ungelöst zurückblieb. Die trübe, abgegossene Flüssigkeit wurde zur Klärung einen Tag beiseite gestellt und dann filtriert. Auf diese Weise konnte bereits eine ganz bedeutende Reinigung erzielt werden. Das klare Filtrat wurde dann durch Destillation vom Weingeist befreit, der Rückstand wieder mit Wasser aufgenommen und die wässerige, klare Lösung mit basischem Bleiacetat versetzt. Nach dem Abfiltrieren des entstandenen Niederschlages wurde das überschüssige Bleiacetat durch schwefelsaures Natrium als unlösliches Bleisulfat entfernt; dem nun erhaltenen Filtrate wurde, ohne es vorher zu konzentrieren, solange Gerbsäurelösung zugefügt, als noch ein Niederschlag entstand. Ueberschuss von Gerbsäure war zu vermeiden, weil darin der Niederschlag wieder löslich war. Im Verlaufe der Untersuchungen hatte sich auch ergeben, dass verdünnte Lösungen viel reichlicher gefällt wurden als konzentrierte. Der Tanninniederschlag setzte sich über Nacht als plastische Masse zu Boden, wovon dann leicht die

darüber stehende Flüssigkeit abgegossen werden konnte. Auf dem Wasserbade erwärmt, mischte sich derselbe leicht mit Alkohol. Diese Mischung wurde hierauf mit frisch gefälltem, gut ausgewaschenem Bleihydroxyd im Ueberschuss versetzt und längere Zeit unter öfterem Umrühren auf Wasserbadwärme erhalten. Zur Zersetzung des Tanninniederschlages in Bleitannat und freies Helleborein hatte sich Bleihydroxyd als ausgezeichnetes Mittel bewährt, während die nach Angabe von Husemann und Marmé hierzu in Anwendung zu bringende Bleiglätte jedoch nach gewonnenen Erfahrungen nicht ausgereicht hatte. Nachdem die Umsetzung vollständig verlaufen war, nachgewiesen durch die Eisenchloridreaktion auf Tannin, wurde die Masse mit Alkohol ausgekocht und filtriert. Das Filtrat wurde ziemlich konzentriert und dann nach dem Erkalten in eine reichliche Menge Aether (auf 50 ccm konzentrierte Lösung ungefähr 1 *l* Aether) in langsamem Strahle unter fortwährendem Umrühren eingegossen. Das Helleborein schied sich nebst einigen Verunreinigungen zuerst in weissen Flocken ab, ballte sich aber dann rasch zu einer gelben Masse zusammen, die sich an der Wandung des Gefässes ansetzte. Nach der Klärung wurde die ätherische Flüssigkeit abgegossen und der Niederschlag in absolutem Alkohol aufgelöst. Diese Lösung, ziemlich konzentriert, wurde dann nochmals in eine reichliche Quantität Aether eingetragen, wobei Abscheidung weisser Flocken von Helleborein, welche sich nicht mehr zusammenballten, erfolgte. Diese wurden sofort auf bereitstehendem Filter gesammelt und nach Absaugung des Aethers wieder in absolutem Alkohol gelöst, welche Lösung dann, auf dem Wasserbade soweit konzentriert, dass sie sich beim Erkalten trübte, über Nacht eine Krystallkruste von Helleborein am Boden des Gefässes absetzte. Die überstehende gelbe Lösung wurde dann abgegossen, das Gefäss sofort unter die Luftpumpe gebracht und dort vollständig ausgetrocknet.

Nur auf diese Weise gelang es, Krystalle von Helleborein zu gewinnen. Aus gewöhnlicher 96% weingeistigen Lösung konnte Helleborein nicht krystallinisch erhalten werden, da diese immer nur zu einer durchsichtigen, amorphen, gelben sehr hygroskopischen Masse eintrocknete, ohne vorherige Abscheidung von Krystallen.

Die erhaltenen Krystalle stellten Konglomerate feiner Nädelchen dar, liessen sich leicht zu einem gelblich weissen Pulver zerreiben, welches sich aber keineswegs so sehr hygroskopisch zeigte, wie nach Angabe von Husemann und Marmé. Solange allerdings das Helleborein nicht krystallinisch erhalten werden konnte, war diese unangenehme Eigenschaft stets zu beobachten, denn die erstarrte glasige Masse zog beim Zerreiben sofort wieder Feuchtigkeit an und machte das Pulvern fast unmöglich. Es dürfte also die allzugrosse hygroskopische

Eigenschaft als Ursache der unvollkommenen Reinheit des Helleboreins angenommen werden. Im Uebrigen zeigte das erhaltene Glukosid dieselben physikalischen Eigenschaften, wie nach Angabe von Husemann und Marmé, was auch zur Beibehaltung des Namens Helleborein für diesen Körper berechtigt.

Was jedoch die chemische Zusammensetzung und die Spaltung des Helleboreins durch Säuren betrifft, so wurden vollkommen abweichende Resultate ermittelt, welche in Kürze hier angeführt werden sollen.

Husemann und Marmé stellten den Glukosidcharakter des Helleboreins fest und fanden, dass es beim Behandeln mit verdünnten Säuren ziemlich leicht in Zucker und einen blauen Spaltungskörper, den sie mit dem Namen Helleboretin bezeichneten, zerlegt würde.

Ihre Elementaranalysen für Helleborein ergaben die Mittelwerte: 52,27 % C und 7,09 % H, woraus sich die Formel $C_{26}H_{44}O_{15}$ für Helleborein berechnete.

Für den blauen Spaltungskörper wurden durch die Elementaranalyse folgende Werte erhalten:

Im Mittel 71,20 % C und 8,49 % H woraus sich die Formel $C_{14}H_{20}O_3$ für Helleboretin berechnete.

Die Spaltungsverhältnisse wurden festgestellt durch die quantitative Bestimmung sowohl des abgespaltenen Helleboretins, als auch des gebildeten Zuckers. Die Menge des erhaltenen Helleboretins betrug 40,00 %, die des Zuckers 59,85 % des in Anwendung gebrachten Helleboreins. Alle diese Werte berechtigten vollkommen zur Annahme, dass das Helleborein glatt nach folgender Gleichung gespalten werde:

$$C_{26}H_{44}O_{15} = C_{14}H_{20}O_3 + 2\,C_6H_{12}O_6,$$

denn die hieraus berechneten, theoretischen Mengen von 39,60 % Helleboretin und 60,40 % Zucker stimmten mit den gefundenen Werten sehr gut überein. Doch schon die Art und Weise der quantitativen Bestimmung des Zuckers lässt einigen Zweifel aufkommen für die Richtigkeit dieser Resultate ferner lieferten die vorgenommenen Untersuchungen mit dem nach obiger Methode dargestellten Helleborein Ergebnisse, welche mit dem von Husemann und Marmé Gefundenen absolut nicht in Einklang zu bringen waren.

Bereits die Elementaranalysen sowohl des Helleboreins, wie auch des Spaltungskörpers Helleboretin ergaben andere prozentische Zusammensetzungen; Helleborein, 3 Stunden bei 105° getrocknet, ferner mit aller Vorsicht behandelt, um es vor Anziehung von Feuchtigkeit zu schützen, und zur Verbrennung gebracht, ergab folgende Werte:

I. 0,4666 g Helleborein gaben: 0,9592 g $CO_2$ = 56,06 % C
und 0,3170 g $H_2O$ = 7,54 „ H.

II. 0,4532 g Helleborein gaben: 0,9346 g $CO_2$ = 56,24 „ C
und 0,2975 g $H_2O$ = 7,29 „ H.

Hieraus berechnet sich für Helleborein die Formel $C_{37}H_{56}O_{18}$, welche nach der Theorie 56,34 % C, 7,10 % H, 36,54 % O enthält. —

Das durch Einwirkung von 5 % Salzsäure auf Helleborein dargestellte Helleboretin, bei 105° scharf getrocknet, ergab bei der Elementaranalyse folgende Werte:

I. 0,3880 g Helleboretin gaben: 0,9626 g $CO_2$ = 67,67 % C.
und 0,3000 g $H_2O$ = 8,59 „ H.

II. 0,3742 g Helleboretin gaben: 0,9242 g $CO_2$ = 67,36 „ C.
und 0,2934 g $H_2O$ = 8,74 „ H.

Hieraus berechnet sich für Helleboretin die Formel $C_{19}H_{30}O_5$, welche nach der Theorie 67,45 % C, 8,87 % H und 23,69 % O enthält. —

Nach der Auffindung dieser abweichenden Resultate wurde die Spaltung des Helleboreins unter besonderer Rücksichtsnahme der quantitativen Bestimmung des abgespaltenen Helleboretins und des gebildeten Zuckers näher untersucht. Bevor jedoch dies unternommen werden konnte, musste erst die Zuckerart näher charakterisiert werden, denn das Auftreten von Reduktionserscheinung beim Kochen mit Fehlingscher Lösung berechtigte noch nicht zur Annahme, dass Glukose gebildet wurde. Das im gegebenen Falle thatsächlich Glukose und zwar Dextrose entstanden war, konnte durch die Schmelzpunktsbestimmung des Osazons und das Drehungsvermögen des Zucker konstatiert werden.

Behufs Darstellung des Osazons wurde folgendermafsen verfahren: Das Filtrat von Helleboretin wurde nach der Neutralisation mit Kalilauge auf dem Wasserbade zur Trockne eingedampft, der Trockenrückstand mit absolutem Alkohol ausgezogen und die Zuckerlösung mit Tierkohle entfärbt. — Hierauf wurde der Alkohol abgedampft und der zurückbleibende Zucker in wenig Wasser gelöst und hierzu eine Lösung von Phenylhydrazin und Natriumacetat gefügt. — Auf dem Wasserbade 20 Minuten erwärmt, schieden sich beim Erkalten gelbe Nadeln eines Osazons ab, welche durch Umkrystallisieren aus absolutem Alkohol gereinigt wurden. — Die erhaltenen, zitronengelben Krystalle dienten dann zur Bestimmung des Schmelzpunktes, der genau bei 204° C. lag, wodurch also der Beweis geliefert war, dass Dextrose die betreffende Zuckerart war. Ferner durch Feststellung des Drehungsvermögens der Zuckerlösung wurde Dextrose nachgewiesen. —

Nun erst konnte an die quantitative Bestimmung der Glukose gegangen werden. — Hauptbedingung hierzu war, zu ermitteln, welche Säure am geeignetsten wäre zur vollkommenen Spaltung des Helleboreins. Als vorzüglich bewährte sich 5 % Salzsäure, während sich 5 % Schwefelsäure als weniger brauchbar erwiesen hatte, indem bei Anwendung derselben die Spaltung bedeutend langsamer vor sich ging; ferner wäre eine Zersetzung des gebildeten Zucker durch Kochen mit Schwefelsäure viel eher zu befürchten, als durch Salzsäure, wodurch natürlich zu grosse Fehlerquellen bei der Zuckerbestimmung entstehen würden.

Durch verschiedene nebeneinander angestellte Versuche wurde auch die Zeitdauer näher bestimmt, in welcher die Spaltung vollkommen stattgefunden hatte.

1. Versuch: Die Lösung von Helleborein in 100 ccm 5 % Salzsäure wurde in einem Kolben in siedendes Wasserbad eingestellt. Zuerst trat rötlichviolette Färbung der Lösung auf; nach Verlauf von 5 Minuten bereits erfolgte die Ausscheidung von blauem Helleboretin. Nach 20 Minuten wurde filtriert, das Filtrat mit Kalilauge neutralisiert und dann genau auf 100 ccm eingedampft.

25 ccm dieser Lösung wurden zur Zuckerbestimmung nach Allihn benutzt.

Bei einem zweiten Versuch wurde das Erwärmen im Wasserbade auf $^3/_4$ Stunden verlängert, beim dritten Versuch sogar auf $1^1/_2$ Stunden. Der 1. Versuch ergab 39,92 % Zucker des angewendeten Helleboreins

„ 2. „ „ 41,73 „ „ „ „ „

„ 3. „ „ 42,67 „ „ „ „ „

Also eine successive Steigerung des gebildeten Zucker war hiermit konstatiert.

Nach dieser Versuchsreihe wurde eine Lösung von Helleborein in 5 % Salzsäure eine Stunde lang im schwachen Kochen erhalten unter zeitweiliger Ersetzung des verdampfenden Wassers und dann, wie oben angegeben, weiter behandelt. — Erst hierdurch wurde vollkommene Spaltung des Helleboreins erreicht, denn das hierbei erhaltene Filtrat gab beim weiteren Aufkochen weder Blaufällung noch Trübung. Das Ergebnis war 44,25 % Zucker, ein Beweis, dass die Wasserbadwärme bei Anwendung von 5 % Salzsäure nicht ausreichend war zur vollständigen Zerlegung. Die hierauf vorgenommene quantitative Bestimmung des abgespaltenen Helleboretins ergab 41,95 %.

Diese beiden Werte 44,25 % Zucker und 41,95 % Helleboretin berechtigten aber nach Feststellung der Molekularformeln für Helleborein und Helleboretin zur Annahme, dass aus einem Molekül des ersteren ein Molekül Helleboretin und 2 Moleküle Zucker abgespalten wurden, denn die hiernach berechneten Mengen von 45,68 % Zucker

und 42,89 % Helleboretin stimmten mit den durch die Analyse ermittelten Zahlen ziemlich überein. Die etwas grössere Differenz bei der quantitativen Zuckerbestimmung würde jedoch sehr leicht eine Erklärung darin finden, dass bei einstündigem Kochen mit 5 % Salzsäure leicht eine teilweise Zersetzung der Glukose in Laevulinsäure stattgefunden haben kann.

Es war nun leicht ersichtlich, dass nach den gefundenen Resultaten eine glatte Spaltung des Glukosides in Helleboretin und Glukose nicht eingetreten war. Es blieb ja noch ein Rest von 6 C Atomen, 2 H Atomen und 1 O Atom übrig. Ziemlich nahe lag nun die Vermutung, dass nebenbei eventuell flüchtige Körper bei der Zerlegung entstehen könnten. Um aber deren Bildung festzustellen, wurde die Spaltung des Helleboreins mit 5 % Schwefelsäure vorgenommen und sofort nach Eintritt der blauen Fällung von Helleboretin mit Wasserdampf abdestilliert. Vom ersten Tropfen an zeigte das Destillat saure Reaktion. Nebenbei trat im weiteren Verlauf der Destillation der Geruch nach Furfurol auf, zu erklären durch die Einwirkung von Schwefelsäure auf die entstandene Glukose. Das saure Destillat wurde dann behufs Darstellung des Baryumsalzes mit verdünntem Barytwasser unter Zusatz eines Tropfens Phenolphtaleïnlösung genau neutralisiert, in einer Platinschale zur Trockene eingedampft und das erhaltene Baryumsalz bei 105° C. 3 Stunden lang getrocknet. Die Analyse dieses Salzes ergab 53,25 % Baryum. Dieser hohe Wert entspricht aber fast genau derjenigen der Essigsäure, deren Baryumsalz 53,72 % Baryum enthalten würde. Es blieb nun nur noch übrig auch den qualitativen Nachweis der Essigsäure zu liefern, was jedoch leicht mittelst der Essigester- und der Kakodyl-Reaktion gelang. Ein weiterer Beweis für die Gegenwart von Essigsäure gab die Salzlösung auf Zusatz eines Tropfens Eisenchloridlösung, wobei das Auftreten von Rotfärbung und beim Kochen Fällung von Ferrihydroxyd konstatiert werden konnte.

Damit dürfte also der sichere Nachweis der Bildung von Essigsäure erbracht und somit auch eine Erklärung des oben angegebenen Restes gefunden sein. Diese aber mit den ermittelten Werten von Helleborein, Helleboretin und Glukose in Einklang zu bringen, musste, da doch höchst wahrscheinlich der Zerfall des Glukosides in molekularem Verhältnis stattfindet, angenommen werden, dass die Spaltung unter gleichzeitiger Addition von 5 Molekülen Wasser vor sich gehen würde, wonach also folgende Formel für die Spaltung des Helleboreins aufgestellt und nach den angeführten Beweisgründen als richtig erkannt werden konnte:

$$C_{37}H_{56}O_{18} + 5\,H_2O = C_{19}H_{30}O_5 + 2\,C_6H_{12}O_6 + 3\,C_2H_4O_2.$$

Es könnte nur noch der Einwand gemacht werden, dass die bei der Spaltung von Helleborein auftretende Essigsäure erst in zweiter Linie durch Einwirkung der verdünnten Schwefelsäure auf das entstandene Helleboretin gebildet würde, also gar nicht mit der eigentlichen Spaltung in Zusammenhang stände. Es hatte sich aber durch den Versuch gezeigt, dass das Helleboretin sich gegen verdünnte Schwefelsäure vollkommen intakt verhielt, also auch die Essigsäure nicht dem Helleboretin seine Entstehung zu verdanken hatte. Es war also damit bewiesen, dass Essigsäure direkt bei der Spaltung des Glukosides entstanden sein musste.

Zur weiteren Orientierung, ob Helleboretin der aromatischen oder der Fettreihe angehöre, wurde die Kalischmelze vorgenommen. Sie lieferte neben Ameisensäure — nachgewiesen durch starke Reduktion von alkalischer Silberlösung, Quecksilberoxydul und Oxydsalzen — einen in Alkohol und Aether löslichen Körper, der jedoch mit Eisenchlorid keinerlei Färbung hervorbrachte.

Oxydation des Helleboretins mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure lieferte bei der Destillation mit Wasserdämpfen ein saures Destillat, welches mit Kalilauge neutralisiert beim Eindampfen zur Trockne ein Salz lieferte, welches ebenfalls starke Reduktion zeigte und bei der Esterifizierung einen rumartigen Ester lieferte, Beweise, dass neben Ameisensäure wahrscheinlich noch höhere Säuren wie Butter oder Valeriansäure gebildet wurden. Der Rückstand stellte einen weissen, in Wasser und Säuren nicht, in Alkohol dagegen löslichen Körper dar, der ebenfalls mit Eisenchlorid ungefärbt blieb. Man dürfte vielleicht aus diesem Verhalten schliessen, dass das Helleboretin der Fettreihe angehöre.

Ein sehr auffälliges Verhalten zeigte das Helleboretin gegen konzentrierte Salpetersäure. Es löste sich darin mit intensiv violetter Farbe, welche Lösung in Wasser gegossen, ein ziemlich ausgiebiges Färbungsvermögen besass. Erst nach längerer Zeit schieden sich aus der wässerigen Lösung violette Flocken aus.

Merkwürdigerweise entstand bei der Behandlung des Glukosides selbst sowohl mit verdünnter, wie konzentrierter Salpetersäure weder die Bildung von Helleboretin, noch das Auftreten der violetten Färbung; jedenfalls war hier die Oxydation bereits eine tiefgreifendere.

Dieses charakteristische Verhalten des Helleboretins kann nun zum qualitativen Nachweis desselben, resp. des Helleboreins dienen. Ist in einer Lösung Helleborein vorhanden, so muss eine Probe derselben beim Eindampfen mit verdünnter Salzsäure zuerst blaues Helleboretin liefern, welches sich dann mit intensiv violetter Farbe in konzentrierter Salpetersäure lösen muss, ein Beweis, dass Helleborein zugegen war.

Weitere Versuche konnten wegen Mangel an Material nicht mehr ausgeführt werden.

## B. Helleborin.

Die Darstellungsmethode des Helleborins nach Husemann und Marmé hatte sich nach den angestellten Vorversuchen als unausführbar erwiesen und musste daher eine andere ausgearbeitet werden.

Ausgegangen wurde hierbei von dem ätherischen Extrakte der Wurzel, welches eine dünnflüssige, grünlichbraune Masse darstellte und neben vielen Fetten, Harzen und Farbstoffen das Helleborin bereits in ausgeschiedenen Krystallkomplexen enthielt. Um hieraus dasselbe rein zu isolieren, konnte ein sehr einfacher Weg eingeschlagen werden. Zuerst wurde zur Entfernung der Fette das Extrakt mit Petroläther behandelt, bis alle Fette in Lösung gegangen waren. Hierauf wurde der harzige, stark braungefärbte Rückstand in kaltem Aceton gelöst. Für Harze und Farbstoffe erwies sich dasselbe als ausgezeichnetes Lösungsmittel, während das Helleborin unlöslich darin war. Auf dem Filter gesammelt und noch öfters mit Aceton nachgewaschen, blieb dasselbe bereits fast farblos zurück. Es konnte nun aus einem Gemisch von Aether und Alkohol umkrystallisiert werden. Die ausgeschiedenen Krystalle wurden gesammelt und bei 105° getrocknet. Ein rein weisser Körper war das Endprodukt. So einfach diese Darstellungsmethode erscheinen mag, so war die Ausbeute doch immerhin ziemlich ergiebig, weil Verluste fast nicht verzeichnet werden konnten. Da jedoch der Gehalt der Wurzel von Helleborus niger an diesem Glukoside an und für sich nur ein sehr geringer ist, so war auch die Ausbeute dem entsprechend und betrug das als Ausgangsmaterial zu den weiteren Versuchen dienende Helleborin nur 1,5 g. Die physikalischen Eigenschaften stimmten auch hier mit den in bezeichneter Arbeit Erwähnten überein. Auch das Verhalten des Glukosides gegen konzentrierte Schwefelsäure, in welcher es sich mit schön violettroter Farbe löst, ist ein Beweis, dass das nach der hier aufgestellten Methode isolierte Glukosid mit dem von Husemann und Marmé identisch ist, also auch für dasselbe der gleiche Namen beibehalten werden kann.

Die angeführte Reaktion mit konzentrierter Schwefelsäure kann als Identitätsreaktion auf Helleborin benützt werden, da das Auftreten der violetten Färbung immerhin als charakteristisch bezeichnet werden kann. —

Nur die Elementaranalyse lieferte auch hier abweichende Resultate. Husemann und Marmé fanden als Mittelwert: 75,53% C und 7,5% H und berechneten daraus die Formel $C_{36}H_{42}O_6$ für Helleborin.

Ganz andere Werte ergaben sich bei der hier vorgenommenen Analyse

I. 0,1794 g lieferten 0,4792 g $CO_2 = 72{,}84\,\%$ C
und 0,1750 g $H_2O = 10{,}83\,\%$ H.

II. 0,1800 g Helleborin lieferten 0,4820 g $CO_2 = 73{,}03\,\%$ C
und 0,1766 g $H_2O = 10{,}90\,\%$ H,

daraus berechnete sich das atomistische Verhältnis $C_6 H_{10} O$.

Der Glukosidcharakter des Helleborins wurde ebenfalls von denselben Verfassern nachgewiesen und konnte durch erneuten Versuch nur bestätigt werden. Allerdings verläuft hier die Spaltung ungleich schwieriger als beim Helleborein. Erst nach langem Kochen mit 10 % Schwefelsäure konnte eine teilweise Spaltung beobachtet werden, indem das Filtrat nach der Neutralisation beim Kochen Fehling'sche Lösung reduzierte. Nach der schon oft erwähnten Arbeit soll eine vollständige Spaltung durch Kochen mit konzentrierter Chlorzinklösung erreicht worden sein. Für den Spaltungskörper, der mit dem Namen Helleboresin bezeichnet ist, wird nach den Elementaranalysen die Formel $C_{30} H_{38} O_4$ berechnet und daraufhin ohne weiteres eine Gleichung aufgestellt, der im Vornherein wenig Vertrauen entgegengebracht werden kann; indem nämlich ein glatter Zerfall des Glukosides in Helleboresin und Zucker unter Aufnahme von 4 Molekülen Wasser angenommen wird. Weder eine quantitative Bestimmung des Zuckers noch des Helleboresin ist ausgeführt. Die Gleichung ist folgende:

$$C_{36} H_{42} O_6 + 4\,H_2O = C_{30} H_{38} O_4 + C_6 H_{12} O_6.$$

Einigen Zweifel muss auch die Isolierung und darnach die Reinheit des Helleboresins selbst erwecken. Denn sehr fraglich erscheint, ob das bei ziemlich hoher Temperatur abgespaltene braune Harz, aus welchem dann das Helleboresin durch Lösen in Alkohol und Fällen aus dieser Lösung mit Wasser als grauweisses Pulver gewonnen wird, auch wirklich das unzersetzte Spaltungsprodukt darstellt. Schon das hier auf Grund genau übereinstimmender Elementaranalysen neu aufgestellte Atomverhältnis für das Glukosid Helleborin dürfte die Gleichung ganz anders gestalten lassen.

Weitere Versuche werden Klarheit darüber bringen, sowie auch Versuche im Gange sind, welche die physiologische Wirkung der beiden Glukoside feststellen sollen.